

Received: 2013.06.12
Accepted: 2014.07.15
Published: 2014.11.27

Metylacja DNA a otyłość prosta

DNA methylation in obesity

Małgorzata Pokrywka¹, Beata Kieć-Wilk³, Anna Polus², Iwona Wybrańska^{1,2}

¹Ośrodek Badań Genetycznych i Nutrigenomiki, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

²Katedra Biochemii Klinicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

³Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

Streszczenie

W alarmującym tempie rośnie na świecie (zwłaszcza w krajach rozwiniętych i rozwijających się) liczba osób z nadwagą i otyłością. Otyłość jest ważnym czynnikiem ryzyka cukrzycy, chorób układu krążenia, nowotworów i w konsekwencji przedwczesnej śmierci. Na rozwój otyłości wpływają zarówno uwarunkowania genetyczne, jak i czynniki środowiskowe, do których zaliczają się zmniejszona aktywność fizyczna i nieprawidłowe nawyki żywieniowe. W ciągu kilku ostatnich lat opisano wiele epigenetycznych, czyli wpływających na ekspresję genów, ale niezwiązanych z modyfikacją pierwszorzędowej sekwencji DNA zmian towarzyszących np. starzeniu się organizmu, chorobom czy otyłości. Do procesów epigenetycznych należą m.in.: metylacja DNA, modyfikacje histonów, tj. acetylacja, metylacja, fosforylacja, ubikwitynacja i sumoilacja oraz synteza niekodującego mikroRNA (miRNA). W pracy przedstawiono poznane dotychczas, związane z rozwojem i powikłaniami otyłości, zmiany w profilu metylacji DNA.

Słowa kluczowe: epigenetyka • metylacja DNA • otyłość

Summary

The number of overweight and obese people is increasing at an alarming rate, especially in the developed and developing countries. Obesity is a major risk factor for diabetes, cardiovascular disease, and cancer, and in consequence for premature death. The development of obesity results from the interplay of both genetic and environmental factors, which include sedentary life style and abnormal eating habits. In the past few years a number of events accompanying obesity, affecting expression of genes which are not directly connected with the DNA base sequence (e.g. epigenetic changes), have been described. Epigenetic processes include DNA methylation, histone modifications such as acetylation, methylation, phosphorylation, ubiquitination, and sumoylation, as well as non-coding micro-RNA (miRNA) synthesis. In this review, the known changes in the profile of DNA methylation as a factor affecting obesity and its complications are described.

Key words: epigenetics • DNA methylation • obesity

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1130084>

Word count: 2972
Tables: –
Figures: 2
References: 86

Adres autorki: dr. Małgorzata Pokrywka; Ośrodek Badań Genetycznych i Nutrigenomiki, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7A, 30-387 Kraków; e-mail: malgorzata.pokrywka@uj.edu.pl

Wykaz skrótów: **5caC** – 5-karboksycytosyna, **5fC** – formylcytozyna, **5-hmC** – 5-hydroksymetylocytosyna, **5hmU** – 5-hydroksymetylouracyl, **5mC** – 5-metylocytosyna, **AID** – deaminaza (activation induced cytosine deaminase), **APOBEC1** – deaminaza (apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic peptide 1), **Avy** – allel mysiego genu agouti, którego produkt białkowy odpowiada za żółte umaszczenie myszy oraz zwiększone ryzyko otyłości i cukrzycy typu 2, **BER** – system naprawy DNA (base excision repair), **CpG** – dinukleotyd cytozyna, guanina (p – oznacza resztę fosforanową), **DIO** – myszy z indukowaną dietą otyłością (diet-induced obesity), **DME** – glikozylaza DEMETER, **DML2**, **DML3** – glikozylazy (DEMETER like), **DNMT** – DNA metylotransferazy, **ESC** – embrionalna komórka macierzysta (embryonic stem cell), **HDAC** – deacetylaza histonów, **IAP** – retrotranspozon (intracisternal A-particle), **MBD** – białko wiążące zmetylowaną cytozynę (methyl-CpG binding proteins), **MeDIP** – metoda polegająca na immunoprecypitacji zmetylowanego DNA (methyl-DNA immunoprecipitation), **miRNA** – mikro RNA, **MOR** – mikroopioidowy receptor (micro-opioid receptor), **MTHF** – 5,10 metylotetrahydrofolian, **NRF-1** – białko regulatorowe (nuclear respiratory factor 1), **PGC** – komórki prapłciowe (primordial germ cell), **PPARα** – receptor jądrowy (peroxisome proliferator – activated receptor alpha), **PWS** – zespół Pradera-Willego (Prader-Willi syndrome), **ROS1** – glikozydaza (repressor of silencing 1), **SAM** – S adenozyłometionina, **SMUG1** – (single-strand selective monofunctional uracil DNA glycosylase1), **SNP** – polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (single nucleotide polymorphism), **TDG** – glikozydaza tyminowa, **THF** – tetrahydrofolian, **UHRF1** – białko biorące udział w rozpoznawaniu chemimetylowanych miejsc w DNA (ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains, 1).

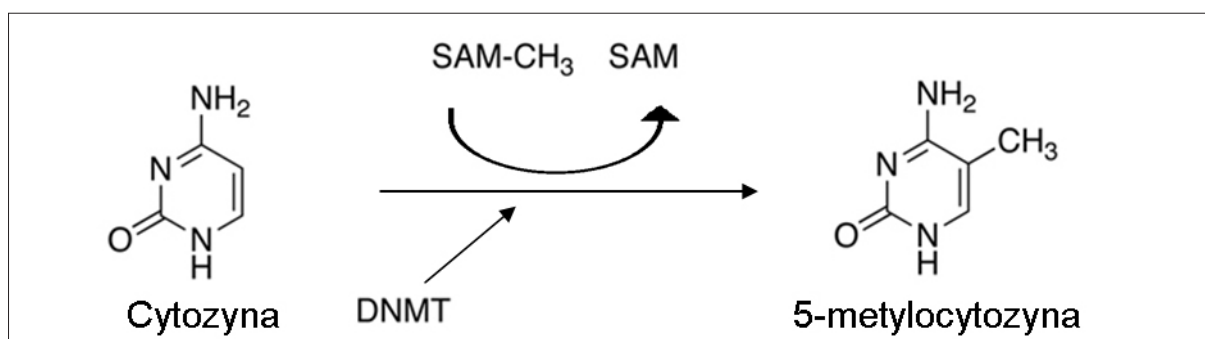
MECHANIZM METYLACJI DNA

Termin epigenetyka odnosi się do procesów zmieniających ekspresję genów, niezwiązanych z modyfikacją pierwszorzędowej sekwencji DNA (polimorfizmy, mutacje itp.) [78]. Zmiany epigenetyczne obejmują: metylację DNA, modyfikacje histonów, tj. acetylację, metylację, fosforylację, ubikwitynację i sumoilację oraz syntezę niekodującego mikroRNA (miRNA) [27]. W pracy przedstawiono jedną z najczęściej opisywanych, w związku z otyłością, epigenetycznych modyfikacji – metylację DNA.

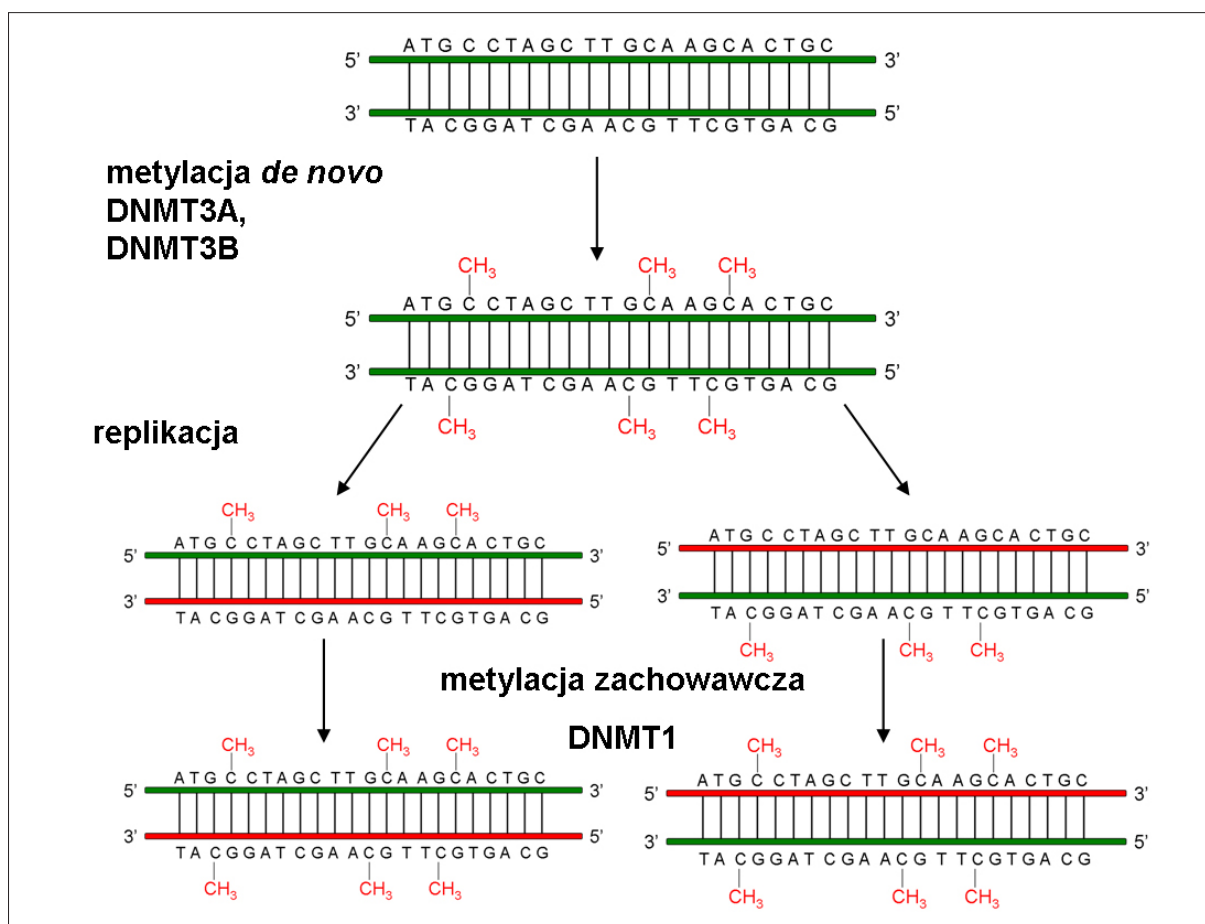
Metylacja DNA polega na przeniesieniu grupy metylowej z donora (najczęściej S-adenozynometioniny, SAM) na atom węgla znajdujący się w pozycji 5 pierścienia pirymidynowego cytozyny, w reakcji katalizowanej przez DNA metylotransferazy (DNMT) [85]. DNMT po związaniu DNA prowadzą do „wywiniecia” cytozyny poza helisę DNA (base flipping), co ułatwia przyłączenie grupy metylowej [14]. U ssaków metylacji podlegają prawie wyłącznie cytozyny znajdujące się

w układzie dinukleotydu CpG (cytozyna-fosforan-guanina) [13] (ryc. 1).

W przypadku komórek embrionalnych, a także indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych – iPS (induced pluripotent stem cell) obserwuje się też metylację cytozyn niesąsiadujących z guaniną [52,86]. Metylacja w obrębie CpG sprawia, że modyfikacji ulegają symetrycznie obydwie przeciwnoległe nici DNA. U ssaków około 70% CpG podlega metylacji [59]. Obecność tej modyfikacji DNA wiąże się jednak z częstszymi mutacjami w genomie, 5-metylocytosyna (5mC) ulega bowiem łatwo spontanicznej deaminacji do tyminy. Jeśli zmiana nie zostanie w porę rozpoznana i naprawiona przez tzw. system naprawy źle sparowanych nukleotydów (mismatch repair), może doprowadzić do utrwalenia tranzycji C-G w T-A. Przypuszcza się, że kumulacja takich punktowych mutacji w czasie ewolucji jest częściowo odpowiedzialna za zjawisko rzadszego, niż wynikałoby to z szacunków, występowania dinukleotydów CpG w genomie [45,59]. W DNA pojawiają się jednak miejsca, w których



Ryc. 1. Mechanizm metylacji DNA; wyjaśnienie w tekście



Ryc. 2. Metylacja *de novo* i metylacja zachowawcza; wyjaśnienia w tekście

doszło do nagromadzenia CpG, są to tzw. wysepki CpG (CpG islands) [16], które są bardzo często umiejscowione w obrębie promotorów genów. W przybliżeniu 70% opisanych promotorów genów (właściwie wszystkich genów aktywnych konstytutywnie – housekeeping genes, a także części genów swoistych tkankowo, jak i genów regulujących rozwój organizmu) zawiera w swojej sekwencji wysepki CpG [16,66]. Wysepki CpG przeważnie nie są metylowane, niezależnie od aktywności genów, chociaż występują wyjątki [8,33]. Analiza metylacji DNA 16 000 promotorów ludzkich genów w komórkach somatycznych metodą immunoprecypitacji zmetylowanego DNA (MeDIP) w połączeniu z mikromacierzą DNA o wysokiej rozdzielczości wykazała, że duża liczba wysepki CpG znajdujących się w obrębie promotorów jest niezmetylowana (mówi się wtedy o tzw. hipometylowanym DNA; w przeciwieństwie do silnie metylowanego tzw. hipermetylowanego DNA), nawet kiedy gen jest transkrypcyjnie nieaktywny [77].

S-ADENOZYOMETIONINA JAKO DONOR GRUP METYLOWYCH W PROCESIE METYLACJI DNA

Donorem grup metylowych w komórce jest głównie S-adenozylometionina (SAM). Związek ten powstaje za pośrednictwem bezpośredniej aktywacji metioniny dostarczanej z pożywieniem lub w wyniku przekształceń homocysteiny

z udziałem folianów [70]. W organizmie człowieka foliany ulegają przekształceniu w biologicznie aktywną postać – kwas tetrahydrofoliowy (THF) w dwustopniowej reakcji katalizowanej przez reduktazę dihydrofolianową. THF z pomocą witaminy B₆ jest konwertowany do 5,10 – metylo-tetrahydrofolianu (MTHF), a następnie przez reduktazę MTHF z udziałem witaminy B₂ do 5-metyloTHF [61]. 5-metyloTHF jest donorem grupy metylowej w reakcji konwersji homocysteiny do metioniny, katalizowanej przez syntazę metioniny w obecności witaminy B₁₂ [3,24]. Metionina ulega dalszej aktywacji do S-adenozylometioniny z udziałem adenozylotransferazy metioninowej. SAM – donor grupy metylowej w reakcji katalizowanej przez metylotransferazę przekształca się do S-adenozylhomocysteiny (SAH), związek ten może być dalej hydrolizowany do homocysteiny przez hydrolazę SAH. SAH jest potencjalnym kompetycyjnym inhibitorem metylacji (w tym metylacji DNA), dlatego ważne jest sprawne usuwanie tego związku ze środowiska reakcji [22,54].

AKTYWNOŚĆ METYLOTRANSFERAZ DNA

W komórkach ssaków opisano trzy aktywne enzymatycznie DNA metylotransferazy: DNMT1, DNMT3A oraz DNMT3B. Metylotransferazy odpowiadają za metylację *de novo* oraz za metylację zachowawczą, związaną z przekła-

zywaniem informacji epigenetycznej do komórek potomnych, powstających po podziale mitotycznym [42] (ryc. 2).

DNMT3A i DNMT3B odpowiadają przede wszystkim za metylację *de novo*. Istnieją jednak doniesienia świadczące, że mogą brać udział również w metylacji zachowawczej [37,56]. Wspomagane są przez homologiczne, lecz niemające aktywności katalitycznej białko DNMT3L, które ułatwia wiązanie enzymów do DNA i stymuluje ich aktywność [71]. DNMT3A i DNMT3B pełnią różne funkcje w czasie rozwoju organizmu, o czym świadczą wyniki badań prowadzonych na myszach z nokautem konkretnego enzymu [12,28]. Myszy wykazywały zróżnicowane defekty i ginęły na różnych stadiach rozwoju w zależności od tego, której z dwu DNA metylotransferaz nie wytwarzały [13]. DNMT3A oraz nieaktywne katalitycznie białko DNMT3L są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za ustanowienie piętna rodzicielskiego [43,58]. DNMT1 odpowiada z kolei za metylację zachowawczą, ale ma również zdolność do metylacji *de novo* [6,41]. Demetylaza ta wykazuje około 15-40 razy większe powinowactwo do hemimetylowanego DNA w porównaniu z DNA niemetylowanym [36]. O hemimetylowanym DNA mówi się najczęściej, kiedy po procesie replikacji DNA, „stara” nić matrycowa jest zmetylowana, natomiast komplementarna – nowo zsyntetyzowana nić, jeszcze nie [37]. W proces rozpoznawania przez DNMT1 miejsc hemimetylowanych jest zaangażowane białko UHRF1 [2]. Jak wykazano homozygotyczna delekcja genu *Dnmt1* u myszy jest letalna już na etapie rozwoju zarodkowego i powoduje 80% redukcję globalnej metylacji DNA w komórkach zarodka, w tym w embrionalnych komórkach macierzystych (ESC). Wyizolowane mysie ESC z nokautem *Dnmt1* charakteryzują się prawidłowym wzrostem, ale zamierają po indukcji różnicowania. Mysie fibroblasty z wyciszonym genem *Dnmt1* giną natomiast po kilku podziałach [50,51].

WPLYW METYLACJI DNA NA WYCISZENIE EKSPRESJI GENÓW

Metylacja DNA jest ważnym mechanizmem wyciszającym ekspresję genów. Ważną jej rolę jest ochrona przed ekspresją transpozonów. Odpowiada również za piętno rodzicielskie (genomic imprinting) i inaktywację chromosomu X [52,83]. Wykazano, że na wyciszenie ekspresji genu wpływa głównie metylacja jego miejsc promotorowych i enhancerowych. Natomiast metylacja samego genu (gene body) wpływa pozytywnie na jego transkrypcję [44].

Są co najmniej dwa mechanizmy, dzięki którym metylacja może zablokować ekspresję genów. Metylacja prowadzi do represji transkrypcji genów bezpośrednio, blokując czynnikom transkrypcyjnym dostęp do docelowej sekwencji DNA lub pośrednio, w wyniku oddziaływania z białkami MBD (methyl-CpG binding proteins), do których należą m.in.: MBD1, MBD2, MBD3, MBD4, MeCP₂ i Keiso. Białka MBD rekrutują białka modyfikujące histony, w tym deacetylazy histonów (HDAC), które promują kondensację chromatyny i dalszą represję genu [47,60]. Proces metylacji DNA jest, jak się okazuje, skorelowany z modyfika-

cjami histonów, konkretnie z brakiem metylacji histonu H3K4 a obecnością metylacji histonu H3K9. Uważa się, że metylacja lizyny 4 histonu H3 chroni promotory genów przed metylacją *de novo* w komórkach somatycznych. Demetylacja H3K4 wydaje się krytyczna dla nałożenia imprintingu w czasie oogenezy. Niedawno odkryto, że DNMT3L rozpoznaje niemetylowaną lizynę 4 histonu H3 i indukuje metylację *de novo* przez rekrutację lub aktywację DNMT3A [39,43,58].

DEMETYLACJA JAKO PROCES ISTOTNY W UTRZYMANIU PRAWDŁOWEGO WZROSTU METYLACJI GENÓW

Badania ostatnich dziesięciu lat wykazały, że metylacja DNA jest procesem bardziej dynamicznym niż dotychczas przypuszczano [80]. W utrzymaniu prawidłowego wzoru metylacji DNA ważną rolę odgrywa proces demetylacji, niezbędny w czasie reaktywacji wyciszonych genów lub błędnie zmetylowanych zasad. Demetylacja może zachodzić pasywnie lub aktywnie. Do demetylacji pasywnej dochodzi w chwili, kiedy replikacji DNA nie towarzyszy metylacja zachowawcza, w związku z czym w drugiej rundzie replikacyjnej powstaje całkowicie niemetylowane DNA [80].

Aktywna demetylacja zachodzi enzymatycznie, niezależnie od przebiegu cyklu komórkowego. Proces ten, jak wykazano, opiera się na systemie naprawy DNA-BER (Base Excision Repair) z udziałem DNA glikozylaz i jest obecnie intensywnie badany [67]. Glikozylazy są niewielkimi cząsteczkami zdolnymi do detekcji i wycięcia chemicznie zmodyfikowanych zasad w DNA, indukującymi proces naprawczy BER prowadzący do zamiany zmodyfikowanej zasady DNA zasadą niemodyfikowaną [26]. U roślin 5mC jest usuwana z udziałem specyficznych dla niej glikozydaz (np. u *Arabidopsis thaliana* występują takie 5mC DNA glikozydazy jak: ROS1, DME, DML2 i DML3). Dotąd nie udało się odnaleźć homologicznych enzymów w komórkach ssaków [25,85]. Badania wskazują, że w przypadku komórek ssaczych w procesie demetylacji DNA biorą udział glikozydazy MBD4 i TDG. Wykazują jednak znikomą aktywność w stosunku do 5mC, natomiast są bardzo aktywne w stosunku do tyminy sparowanej nieprawidłowo z guaniną (T:G mismach) [35,67]. Powyższe obserwacje wskazują, że u ssaków aktywna demetylacja może zachodzić w wyniku dwustopniowego procesu. Wydaje się, że pierwszym jego etapem jest deaminacja 5mC do tyminy z udziałem białek AID (activation induced cytosine deaminase) i APOBEC1 (apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic peptide 1), w wyniku czego pojawia się miejsce z błędnie sparowanymi zasadami (T:G). Zmianę rozpoznają następnie glikozydazy TDG i MBD4, które wycinając tyminę prowadzą do powstania miejsca apirymidynowego i aktywacji systemu naprawczego BER, odpowiadającego za uzupełnienie luki prawidłową niemetylowaną cytozyną [7]. Odkrycia dotyczące 5-hydroksymetylocytozyny (5hmC) sugerują istnienie dodatkowego mechanizmu aktywnej demetylacji w komórkach ssaków. 5hmC nazywana często szóstą zasadą DNA powstaje w wyniku utlenienia 5mC przez białka TET (ten-eleven translocatio 1) [55].

Niedawne doświadczenia na komórkach mózdzku mysiego i na mysich komórkach embrionalnych pozwoliły na postawienie hipotezy, że 5hmC może być pośrednikiem w procesie usuwania 5mC. Badając macierzyste komórki embrionalne zaobserwowano, że nadekspresja TET1 prowadzi do zmniejszenia poziomu 5mC i niewielkiego wzrostu ilości niezmodyfikowanej cytozyny. Zahamowanie aktywności TET1 działa odwrotnie i powoduje globalną akumulację 5mC [72,81]. Utrata 5mC w ojcowskim materiale genetycznym zapłodnionego oocyta koreluje ze wzrostem 5hmC w samczym przedjadrze, podczas gdy zmetylowane przedjadrze żeńskie zawiera niski poziom 5hmC [29,40,79].

Wydaje się, że 5hmC może być usuwana podobnie jak 5mC przez deaminację z udziałem białek AID/APOBEC. Potwierdzają to badania na komórkach neuronalnych, w których nadekspresja białek TET i AID prowadziła do globalnej akumulacji 5-hydroksymetylouracylu (5hmU), produktu deaminacji 5hmC [31]. W proces usuwania 5hmC są zaangażowane prawdopodobnie glikozydazy SMUG1 (single-strand selective monofunctional uracil DNA glycosylase1) i TDG mające silne powinowactwo do nieprawidłowo sparowanych zasad 5hmU:G [15,31]. Bardzo prawdopodobne, że ten szlak demetylacji obejmuje również dalsze modyfikacje 5hmC do 5-formylcytozyny (5fC) i 5-karboksycytozyny (5caC). Obie modyfikacje zidentyfikowano w genomie [9]. Przyjęto możliwość, że 5fC i 5caC ulegają bezpośredniej konwersji do cytozyny, jednak dotychczas nie udało się zidentyfikować żadnego enzymu mogącego powodować taką reakcję. Wykazano, że glikozydaza TDG może wykazywać aktywność również w stosunku do 5fC i 5caC, jest więc prawdopodobne, że w tym przypadku dochodzi do aktywacji systemu BER [34,53].

OGÓLNE ZMIANY W PROFILU METYLACJI DNA

U ssaków w ciągu całego życia dochodzi dwukrotnie do globalnego przeprogramowania wzorca metylacji DNA. Odbywa się to w komórkach prąpciwych (primordial germ cells, PGCs). DNA komórek PGC wędrujących do zawiązków gonad ulega całkowitej demetylacji, zostaje wymazany również tzw. wzór genomowego piętna rodzicielskiego polegającego na zróżnicowanej metylacji pewnych genów, w zależności od tego czy pochodzą od matki czy od ojca i wiążące się z monoalleliczną ekspresją tych genów [63,84]. Wyjątek stanowią jednak niektóre retrotranspozony, które pozostają zmetylowane, co najprawdopodobniej zabezpiecza przed ich aktywacją i możliwością wbudowania się w nowe miejsce w genomie. Oporność na demetylację wykazują również subtelomerowe sekwencje DNA, co może mieć związek z rolą jaką pełnią w utrzymaniu stabilności chromosomów [30]. Podczas dalszego rozwoju gamet jest nakładany nowy wzór metylacji oraz nowy wzór piętna rodzicielskiego – zależny od płci. U samców nowy profil metylacji pojawia się już kilka dni od rozpoczęcia demetylacji, u samic nanoszenie nowego wzoru metylacji zostaje zakończone po urodzeniu [65].

Do kolejnej globalnej demetylacji dochodzi tuż po zapłodnieniu, z tym, że procesowi temu nie podlegają miejsca imprintowane i niektóre retrotranspozony. Zaobserwowano, że materiał genetyczny pochodzący od ojca jest bardziej zmetylowany w porównaniu z DNA matczynym. Utrata 5mC w przedjadrze męskim zachodzi gwałtownie i jest niezależna od podziałów zygoty – stanowi klasyczny przykład procesu aktywnej demetylacji. Matczyne DNA ulega natomiast stopniowej pasywnej demetylacji w ciągu kilku pierwszych podziałów zygoty. Nowy wzór metylacji jest nanoszony tuż przed implantacją zarodka [63,69].

METYLACJA DNA A OTYŁOŚĆ

Badania epidemiologiczne wykazały, że otyłość jest ważnym czynnikiem ryzyka cukrzycy, chorób układu krążenia, nowotworów i w konsekwencji przedwczesnej śmierci [46]. Wysiłki zmierzające do ograniczenia otyłości przez dietę, ćwiczenia, edukację czy zastosowanie nielicznych leków nie są w stanie, jak dotąd, skutecznie i długofalowo rozwiązać problemu [38].

Etiologia otyłości jest złożona i wieloczynnikowa, wpływają na nią uwarunkowania genetyczne i czynniki środowiskowe obejmujące nieprawidłowe nawyki żywieniowe czy np. siedzący tryb życia. Wykazano, że u ludzi masa ciała matki koreluje z masą ciała potomstwa. Wysłunięto w związku z tym hipotezę, że matczyne otyłość w czasie ciąży jest przyczyną rozwojowych adaptacji promujących otyłość u dzieci [76]. Najnowsze badania potwierdzają powyższą hipotezę. Wykazano, że dzieci urodzone po operacji bariatrycznej matki są mniej podatne na otyłość w porównaniu z rodzeństwem urodzonym przed zabiegiem [48]. Badania kliniczne i epidemiologiczne wskazują, że u podstaw interakcji między środowiskiem a genami leżą mechanizmy epigenetyczne [84].

Początkowa próba połączenia epigenetyki, a konkretnie zmian we wzorze metylacji DNA, z otyłością wynikała z obserwacji symptomów rzadkiej choroby dziedzicznej – zespołu Pradera-Willego (PWS). Zespół Pradera-Willego był pierwszym opisanym u człowieka przykładem choroby związanej z imprintingiem, mechanizmem wpływającym na zróżnicowany poziom metylacji wybranych genów w zależności od tego czy pochodzą od ojca, czy od matki i wiążącym się z ich monoalleliczną ekspresją. Do rozwoju PWS prowadzi najczęściej utrata fragmentu długiego ramienia chromosomu 15 (15q11.2-q13) pochodzącego od ojca (70%), matczyne disomia uniparentalna (25-30%) oraz nieprawidłowe nałożenie piętna rodzicielskiego (1%). W obrazie klinicznym choroby obserwuje się: niski wzrost, upośledzenie umysłowe, niedorozwój narządów płciowych (hipogonadyzm) oraz otyłość, związaną z tzw. hiperfagią, czyli nadmiernym zwiększeniem łaknienia. Uważa się, że Zespół Pradera-Willego jest najczęstszą genetycznie uwarunkowaną przyczyną otyłości [11]. Z otyłością u osób z PWS wiąże się przypuszczalnie nieprawidłowe funkcjonowanie białka NRF-1 regulującego homeostazę glukozy oraz za-

burzona ekspresja genu *MEGEL2* we wczesnych etapach rozwoju układu nerwowego [57].

Zakrojony na szeroką skalę projekt badawczy GWAS (genome-wide association study), którego celem jest identyfikacja genetycznych czynników ryzyka powszechnie występujących chorób, przyczynił się do wykazania związku między otyłością a obecnością mononukleotydowych polimorfizmów (single nucleotide polymorphisms, SNPs) w genie *FTO* (Fat Mass and Obesity) [17,23,68]. Gen *FTO* ulega szerokiej ekspresji, obserwowanej najsilniej w mózgu, a zwłaszcza w podwzgórzu [21]. Białko kodowane przez gen *FTO* jest dioksygenazą i bierze udział w naprawie alkilowanego DNA i RNA przez oksydacyjną demetylację. Wykazuje ono największe powinowactwo do 3-metyloracylu w jednoniciowym RNA, a następnie do 3-metylotyminy w jednoniciowym DNA, nie wykazuje natomiast obserwowalnej aktywności w stosunku do dwuniciowego DNA [32]. Produkt genu *FTO* wpływa na proces pobierania pokarmu (co próbuje się powiązać z jego silną ekspresją w strukturach podwzgórza, stanowiących ośrodek głodu i sytości), preferencje w stosunku do pokarmu oraz homeostazę energetyczną, co wiąże się z regulacją akumulacji tłuszczów w organizmie i regulacją masy ciała. Jaki jednak jest dokładny mechanizm działania białka dotąd nie wiadomo [49,82]. Bell i wsp. wykazali, że w przypadku jednego z czynników ryzyka otyłości, allelu genu *FTO* (rs8050136) SNP prowadzi do powstania dodatkowego miejsca metylacji, co sugeruje współdziałanie czynników genetycznych i epigenetycznych w przypadku aktywności tego allelu [4]. Almén i wsp. wykazali, że obecność czynnika ryzyka otyłości, allelu genu *FTO* (rs9939609) powoduje zmianę profilu metylacji pięciu genów: *KARS/TERF2IP*, *DEXI*, *MSI1*, *STON1* i *BCAS3*. Nie jest jednak pewne czy obserwowane zmiany metylacji są związane z bezpośrednią aktywnością produktu genu *FTO*, ponieważ jak wiadomo, białko to nie wykazuje aktywności w stosunku do 5mC występującej w dwuniciowym DNA, czy też wynikają z pośrednich mechanizmów [1].

Doskonałym modelem wykorzystywanym do badań związanych z wpływem czynników środowiskowych, w tym odżywiania, na procesy epigenetyczne są myszy wykazujące ekspresję allelu *Avy* genu *agouti* (viable yellow *agouti* (*Avy*) mouse). Gen *agouti* typu dzikiego koduje cząsteczkę sygnałową, która odpowiada za przejście od wytwarzania czarnej eumelaniny do żółtej feomelaniny w mieszkach włosowych. W zależności od poziomu ekspresji genu *agouti* umaszczenie poszczególnych myszy waha się od żółtego do brązowego aż po czarne. Umaszczenie jest więc przydatnym fenotypowym wyznacznikiem aktywności genu *agouti*. Metastabilny epiallel *Avy* jest wynikiem insercji intracistronowej cząsteczki P (IAP) mysiego retrotranspozonu, powyżej miejsca startu transkrypcji genu *agouti* [18]. Kiedy sekwencja IAP występuje w postaci niezmetylowanej, gen *agouti* *Avy* ulega ekspresji, a myszy mają żółte umaszczenie. Allel *Avy* działa pleiotropowo, wpływając dodatkowo na rozwój otyłości i cukrzycy u zwierząt [10,62]. Dolinoy i wsp. wykazali, że u myszy *Agouti*, suplementacja diety matczynej geniste-

iną – izoflawonoidem obecnym w soi, prowadzi do zmiany umaszczenia z żółtego na brązowe, a także do zmniejszenia częstotliwości występowania otyłości wśród potomstwa. Zmiany te były spowodowane zwiększoną metylacją sekwencji retrotranspozonowej IAP i w konsekwencji obniżoną ekspresją allelu *Avy* [20].

Wykazano również, że potomstwo samic szczurów pojoynych od 6 dnia ciąży i w okresie laktacji wodą z toksycznym estrogenopodobnym czynnikiem hipometylującym – bisfenolem A, używanym często do produkcji plastiku, charakteryzuje się zwiększoną masą ciała [64]. Potwierdzono to w badaniach na myszach *Agouti*. Potomstwo myszy, którym podawano jedzenie z dodatkiem bisfenolu A, charakteryzowało się spadkiem poziomu metylacji allelu *Avy*, żółtym umaszczeniem, otyłością i cukrzycą. Działanie bisfenolu A związane ze spadkiem poziomu metylacji DNA uległo jednak zahamowaniu przez suplementację ciężarnych samic donorami grup metylowych, tj. kwasem foliowym czy genisteiną [19].

Pobieranie pokarmu jest ściśle kontrolowane przez znajdujący się w podwzgórzu ośrodek głodu i sytości, a także przez struktury nerwowe związane z układem nagrody (pole brzuszne nakrywki, jądro półleżące, kora przedczołowa) [5]. Uwalniania w czasie jedzenia w strukturach układu nagrody dopamina, daje poczucie zadowolenia. Dieta wysokotłuszczowa prowadzi do redukcji syntezy dopaminy w układzie nagrody, co wiąże się z koniecznością pobierania coraz większej ilości pokarmu w celu uzyskania dobrego samopoczucia, a to może prowadzić do rozwoju otyłości [75]. Vucetic i wsp. wykazali, że u myszy DIO (diet-induced obesity) będących na diecie wysokotłuszczowej dochodzi do zmian w metylacji DNA promotorów genów hydroksylazy tyrozynowej – pełniącej rolę w biosyntezie dopaminy oraz transportera dopaminy – biorącego udział w wychwycie zrotnym tego neuroprzekaźnika. U myszy DIO w strukturach nerwowych związanych z układem nagrody zaobserwowano wzrost poziomu metylacji promotorów wyżej wymienionych genów i obniżenie ich ekspresji [73]. Ta sama grupa naukowców wykazała również, że wysokotłuszczowa dieta prowadzi u myszy do hipermetylacji w promotorze genu dla mikroopiodowego receptora – MOR i tym samym do obniżenia ekspresji genu w układzie nagrody [74].

Zaobserwowano ponadto, że restrykcje białkowe u kobiet w ciąży prowadzą do zmian w epigenetycznym profilu niektórych genów u nowo narodzonego potomstwa. Zmiany te obejmują m.in. receptor glukokortykoidowy, który ulega hipometylacji oraz czynnik transkrypcyjny PPARα (peroxisome proliferator-activated receptor alpha), receptor zaangażowany w metabolizm węglowodanów i tłuszczów [10].

PODSUMOWANIE

Pojawia się coraz więcej prac, w których są prezentowane wyniki świadczące jednoznacznie o udziale procesów epigenetycznych w etiologii otyłości. Wciąż są

poznawane nowe geny związane z tym schorzeniem, których ekspresja jest epigenetycznie regulowana. Na podstawie badań wiadomo również, że epigenetyczne modyfikacje związane z czynnikami środowiskowymi są bardziej plastyczne w porównaniu do tych związanych z globalną metylacją i demetylacją. Prawdopodobnie w przyszłości będzie można wykorzystać i ten mechanizm regulacji ekspresji genów w prewen-

cji i do opracowywania skutecznych terapii otyłości. Coraz bardziej jest również oczywiste, że dieta przez mechanizmy epigenetyczne może wpływać na poziom ekspresji wielu genów i prowadzić do rozwoju wielu schorzeń. Nowa gałąź nauki – nutrigenomika, badając wpływ diety na zmiany epigenetyczne, przyczynia się do poznania i zrozumienia zależności między tym cojemy a naszym zdrowiem.

PIŚMIENICTWO

- [1] Almén M.S., Jacobsson J.A., Moschonis G., Benedict C., Chrousos G.P., Fredriksson R., Schiöth H.B.: Genome wide analysis reveals association of a FTO gene variant with epigenetic changes. *Genomics*, 2012; 99: 132-137
- [2] Arita K., Ariyoshi M., Tochio H., Nakamura Y., Shirakawa M.: Recognition of hemi-methylated DNA by the SRA protein UHRF1 by a base-flipping mechanism. *Nature*, 2008; 455: 818-821
- [3] Austin R.C., Lentz S.R., Werstuck G.H.: Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ.*, 2004; 11: S56-S64
- [4] Bell C.G., Finer S., Lindgren C.M., Wilson G.A., Rakan V.K., Teschendorff A.E., Akan P., Stupka E., Down T.A., Prokopenko I., Morison I.M., Mill J., Pidsley R., International Type 2 Diabetes 1q Consortium, Deloukas P. i wsp.: Integrated genetic and epigenetic analysis identifies haplotype-specific methylation in the FTO type 2 diabetes and obesity susceptibility locus. *PLoS One*, 2010; 5: e14040
- [5] Berthoud H.R., Morrison C.: The brain, appetite, and obesity. *Annu. Rev. Psychol.*, 2008; 59: 55-92
- [6] Bestor T.H.: The DNA methyltransferases of mammals. *Hum. Mol. Genet.*, 2000; 9: 2395-2402
- [7] Bhutani N., Burns D.M., Blau H.M.: DNA demethylation dynamics. *Cell*, 2011; 146: 866-872
- [8] Bird A.: DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.*, 2002; 16: 6-21
- [9] Branco M.R., Ficz G., Reik W.: Uncovering the role of 5 hydroxymethylcytosine in the epigenome. *Nat. Rev. Genet.*, 2011; 13: 7-13
- [10] Campión J., Milagro F.I., Martínez J.A.: Individuality and epigenetics in obesity. *Obes. Rev.*, 2009; 10: 383-392
- [11] Chen C., Visootsak J., Dills S., Graham J.M.Jr.: Prader-Willi syndrome: an update and review for the primary pediatrician. *Clin. Pediatr. Phila.*, 2007; 46: 580-591
- [12] Chen T., Li E.: Structure and function of eukaryotic DNA methyltransferases. *Curr. Top Dev. Biol.*, 2004; 60: 55-89
- [13] Chen Z., Riggs A.D.: DNA methylation and demethylation in mammals. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 18347-18353
- [14] Cheng X., Roberts R.J.: AdoMet-dependent methylation, DNA methyltransferase and base flipping. *Nucleic Acids Res.*, 2001; 29: 3784-3795
- [15] Cortellino S., Xu J., Sannai M., Moore R., Caretti E., Cigliano A., Le Coz M., Devarajan K., Wessels A., Soprano D., Abramowitz L.K., Bartolomei M.S., Rambow F., Bassi M.R., Bruno T. i wsp.: Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair. *Cell*, 2011; 146: 67-79
- [16] Deaton A.M., Bird A.: CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev.*, 2011; 25: 1010-1022
- [17] Dina C., Meyre D., Gallina S., Durand E., Körner A., Jacobson P., Carlsson L.M., Kiess W., Vatin V., Lecoecur C., Delplanque J., Vaillant E., Pattou F., Ruiz J., Weill J. i wsp.: Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat. Genet.*, 2007; 39: 724-726
- [18] Dolinoy D.C.: The agouti mouse model: an epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome. *Nutr. Rev.*, 2008; 66: S7-S11
- [19] Dolinoy D.C., Huang D., Jirtle R.L.: Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 13056-13061
- [20] Dolinoy D.C., Weidman J.R., Waterland R.A., Jirtle R.L.: Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ. Health Perspect.*, 2006; 114: 567-572
- [21] Fawcett K.A., Barroso I.: The genetics of obesity: FTO leads the way. *Trends Genet.*, 2010; 26: 226-274
- [22] Finkelstein J.D.: Methionine metabolism in mammals. *J. Nutr. Biochem.*, 1990; 1: 228-237
- [23] Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N., Zeggini E., Freathy R.M., Lindgren C.M., Perry J.R., Elliott K.S., Lango H., Rayner N.W., Shields B., Harries L.W., Barrett J.C., Ellard S., Groves C.J. i wsp.: A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 2007; 316: 889-894
- [24] Gąsiorowska D., Korzeniowska K., Jabłeczka A.: Homocysteina. *Farmacja współczesna*, 2008; 1: 169-175
- [25] Gehring M., Reik W., Henikoff S.: DNA demethylation by DNA repair. *Trends Genet.*, 2009; 25: 82-90
- [26] Germann M.W., Johnson C.N., Spring A.M.: Recognition of damaged DNA: Structure and Dynamic Markers. *Med. Res. Rev.*, 2012; 32: 659-683
- [27] Goldberg A.D., Allis C.D., Bernstein E.: Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 2007; 128: 635-638
- [28] Gopalakrishnan S., Van Emburgh B.O., Robertson K.D.: DNA methylation in development and human disease. *Mutat. Res.*, 2008; 647: 30-38
- [29] Gu T.P., Guo F., Yang H., Wu H.P., Xu G.F., Liu W., Xie Z.G., Shi L., He X., Jin S., Iqbal K., Shi Y.G., Deng Z., Szabó P.E., Pfeifer G.P., Li J., Xu G.L.: The role of Tet3 DNA dioxygenase in epigenetic reprogramming by oocytes. *Nature*, 2011; 477: 606-610
- [30] Guibert S., Forné T., Weber M.: Global profiling of DNA methylation erasure in mouse primordial germ cells. *Genome Res.*, 2012; 22: 633-641
- [31] Guo J., Su Y., Zhong C., Ming G.L., Song H.: Hydroxylation of 5 methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell*, 2011; 145: 423-434
- [32] Han Z., Niu T., Chang J., Lei X., Zhao M., Wang Q., Cheng W., Wang J., Feng Y., Chai J.: Crystal structure of the FTO protein reveals basis for its substrate specificity. *Nature*. 2010; 464: 1205-1209
- [33] Hattori N., Abe T., Hattori N., Suzuki M., Matsuyama T., Yoshida S., Li E., Shiota K.: Preference of DNA methyltransferases for

CpG islands in mouse embryonic stem cells. *Genome Res.*, 2004; 14: 1733-1740

[34] He Y.F., Li B.Z., Li Z., Liu P., Wang Y., Tang Q., Ding J., Jia Y., Chen Z., Li L., Sun Y., Li X., Dai Q., Song C.X., Zhang K., He C., Hu G.L.: Tet-mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA. *Science*, 2011; 333: 1303-1307

[35] Hendrich B., Hardeland U., Ng H.H., Jiricny J., Bird A.: The thymine glycosylase MBD4 can bind to the product of deamination at methylated CpG sites. *Nature*, 1999; 401: 301-304

[36] Hermann A., Gowher H., Jeltsch A.: Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004; 61: 2571-2587

[37] Hermann A., Goyal R., Jeltsch A.: The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 48350-48359

[38] Herrera B.M., Keildson S., Lindgren C.M.: Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*, 2011; 69: 41-49

[39] Hu J.L., Zhou B.O., Zhang R.R., Zhang K.L., Zhou J.Q., Xu G.L.: The N-terminus of histone H3 is required for de novo DNA methylation in chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 22187-22192

[40] Iqbal K., Jin S.G., Pfeifer G.P., Szabó P.E.: Reprogramming of the paternal genome upon fertilization involves genome-wide oxidation of 5 methylcytosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 3642-3647

[41] Jair K.W., Bachman K.E., Suzuki H., Ting A.H., Rhee I., Yen R.W., Baylin S.B., Schuebel K.E.: *De novo* CpG island methylation in human cancer cells. *Cancer Res.*, 2006; 66: 682-692

[42] Jeltsch A.: Molecular enzymology of mammalian DNA methyltransferases. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2006; 301: 203-225

[43] Jia D., Jurkowska R.Z., Zhang X., Jeltsch A., Cheng X.: Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for de novo DNA methylation. *Nature*, 2007; 449: 248-251

[44] Jones P.A.: Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat. Rev. Genet.*, 2012; 13: 484-492

[45] Karlin S., Burge C.: Dinucleotide relative abundance extremes: A genomic signature. *Trends Genet.*, 1995; 11: 283-290

[46] Kelly T., Yang W., Chen C.S., Reynolds K., He J.: Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int. J. Obesity*, 2008; 32: 1431-1437

[47] Klose R.J., Bird A.P.: Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem. Sci.*, 2006; 31: 89-97

[48] Kral J.G., Biron S., Simard S., Hould F.S., Lebel S., Marceau S., Marceau P.: Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. *Pediatrics*, 2006; 118: 1644-1649

[49] Larder R., Cheung M.K., Tung Y.C., Yeo G.S., Coll A.P.: Where to go with FTO? *Trends. Endocrinol. Metab.* 2011; 22: 53-59

[50] Lei H., Oh S.P., Okano M., Jüttermann R., Goss K.A., Jaenisch R., Li E.: De novo DNA cytosine methyltransferase activities in mouse embryonic stem cells. *Development*, 1996; 122: 3195-3205

[51] Li E., Bestor T.H., Jaenisch R.: Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell*, 1992; 69: 915-926

[52] Lister R., Pelizzola M., Dowen R.H., Hawkins R.D., Hon G., Tonti-Filippini J., Nery J.R., Lee L., Ye Z., Ngo Q.M., Edsall L., Antosiewicz-Bourget J., Stewart R., Ruotti V., Millar A.H., Thomson J.A., Ren B., Ecker J.R.: Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*, 2009; 462: 315-322

[53] Maiti A., Drohat A.C.: Thymine DNA glycosylase can rapidly excise 5 formylcytosine and 5 carboxylcytosine: potential impli-

cations for active demethylation of CpG sites. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 35334-35338

[54] Mato J.M., Alvarez L., Ortiz P., Pajares M.A.: S-adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. *Pharmacol. Ther.*, 1997; 73: 265-280

[55] Münzel M., Globisch D., Carell T.: 5-Hydroxymethylcytosine, the sixth base of the genome. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2011; 50: 6460-6468

[56] Okano M., Li E.: Genetic analyses of DNA methyltransferase genes in mouse model system. *J. Nutr.*, 2002; 132: 2462S-2465S

[57] Olszewska M., Kurpisz M.: Metylacja i jej rola regulacyjna wobec rodzicielskiego piętna genomowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 642-649

[58] Ooi S.K., Qiu C., Bernstein E., Li K., Jia D., Yang Z., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Lin S.P., Allis C.D., Cheng X., Bestor T.H.: DNMT3L connects unmethylated lysine 4 of histone H3 to de novo methylation of DNA. *Nature*, 2007; 448: 714-717

[59] Pennings S., Allan J., Davey C.S.: DNA methylation, nucleosome formation and positioning. *Brief. Funct. Genomic. Proteomic.*, 2005; 3: 351-361

[60] Portela A., Esteller M.: Epigenetic modifications and human disease. *Nat. Biotechnol.*, 2010; 28: 1057-1068

[61] Qiu A., Jansen M., Sakaris A., Min S.H., Chattopadhyay S., Tsai E., Sandoval C., Zhao R., Akabas M.H., Goldman I.D.: Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell*, 2006; 127: 917-928

[62] Rakyan V.K., Blewitt M.E., Druker R., Preis J.I., Whitelaw E.: Metastable epialleles in mammals. *Trends Genet.*, 2002; 18: 348-351

[63] Rivera R.M., Ross J.W. Epigenetics in fertilization and preimplantation embryo development. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2013; 113: 423-32

[64] Rubin B.S., Murray M.K., Damassa D.A., King J.C., Soto A.M.: Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ. Health Perspect.*, 2001; 109: 675-680

[65] Sasaki H., Matsui Y.: Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat. Rev. Genet.*, 2008; 9: 129-140

[66] Saxonov S., Berg P., Brutlag D.L.: A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 1412-1417

[67] Schär P., Fritsch O.: DNA repair and the control of DNA methylation. *Prog. Drug Res.*, 2011; 67: 51-68

[68] Scuteri A., Sanna S., Chen W.M., Uda M., Albai G., Strait J., Najjar S., Nagaraja R., Orrù M., Usala G., Dei M., Lai S., Maschio A., Busonero F., Mulas A. i wsp.: Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.*, 2007; 3: e115

[69] Smith Z.D., Meissner A.: DNA methylation: roles in mammalian development. *Nat. Rev. Genet.*, 2013; 14: 204-220

[70] Stanger O.: Physiology of folic acid in health and disease. *Curr. Drug Metab.*, 2002; 3: 211-223

[71] Suetake I., Shinozaki F., Miyagawa J., Takeshima H., Tajima S.: DNMT3L stimulates the DNA methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3b through a direct interaction. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 27816-27823

[72] Tahiliani M., Koh K.P., Shen Y., Pastor W.A., Bandukwala H., Brudno Y., Agarwal S., Iyer L.M., Liu D.R., Aravind L., Rao A.: Conversion of 5 methylcytosine to 5 hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science*, 2009; 324: 930-935

- [73] Vucetic Z., Carlin J.L., Totoki K., Reyes T.M.: Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet-induced obesity. *J. Neurochem.*, 2012; 120: 891-898
- [74] Vucetic Z., Kimmel J., Reyes T.M.: Chronic high-fat diet drives postnatal epigenetic regulation of μ -opioid receptor in the brain. *Neuropsychopharmacology*, 2011; 36: 1199-1206
- [75] Vucetic Z., Reyes T.M.: Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward: implications for the regulation of obesity. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, 2010; 2: 577-593
- [76] Waterland R.A., Travisano M., Tahiliani K.G., Rached M.T., Mirza S.: Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int. J. Obes.*, 2008; 32: 1373-1379
- [77] Weber M., Hellmann I., Stadler M.B., Ramos L., Pääbo S., Rebhan M., Schübeler D.: Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat. Genet.*, 2007; 39: 457-466
- [78] Weinhold B.: Epigenetics: the science of change. *Environ. Health Perspect.*, 2006; 114: 160-167
- [79] Wossidlo M., Nakamura T., Lepikhov K., Marques C.J., Zakhartchenko V., Boiani M., Arand J., Nakano T., Reik W., Walter J.: 5-Hydroxymethylcytosine in the mammalian zygote is linked with epigenetic reprogramming. *Nat. Commun.*, 2011; 2: 241
- [80] Wu S.C., Zhang Y.: Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010; 11: 607-620
- [81] Xu Y., Wu F., Tan L., Xiong L., Deng J., Barbera A.J., Zheng L., Zhang H., Huang S., Min J., Nicholson T., Chen T., Xu G., Shi Y., Zhang K., Shi Y.G.: Genome-wide regulation of 5hmC, 5mC, and gene expression by Tet1 hydroxylase in mouse embryonic stem cells. *Mol. Cell*, 2011; 42: 451-464
- [82] Yeo G.S., O'Rahilly S.: Uncovering the biology of FTO. *Mol. Metab.*, 2012; 1: 32-36
- [83] Yoder J.A., Walsh C.P., Bestor T.H.: Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet.*, 1997; 13: 335-340
- [84] Youngson N.A., Morris M.J.: What obesity research tells us about epigenetic mechanisms. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2013; 368: 20110337
- [85] Zhu J.K.: Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases. *Annu. Rev. Genet.*, 2009; 43: 143-166
- [86] Ziller M.J., Müller F., Liao J., Zhang Y., Gu H., Bock C., Boyle P., Epstein C.B., Bernstein B.E., Lengauer T., Gnirke A., Meissner A.: Genomic distribution and inter-sample variation of non-CpG methylation across human cell types. *PLoS Genet.*, 2011; 7: e1002389

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.